

Tosoh Automated Glycohemoglobin Analyzer HLC-723®G11

Instrucciones de uso

G11® β -Thalassemia Elution Buffer

No.1 (S)

No.2 (S)

No.3 (S)



TOSOH CORPORATION

Atención: las presentes instrucciones de uso cumplen con la directiva de diagnóstico *in vitro* 98/79/CE y se han elaborado para el uso por parte de los clientes que operan en un estado miembro de la Unión Europea.

Precauciones de seguridad

Para ayudarle a protegerse y a preservar sus pertenencias de posibles daños, así como para garantizar la seguridad personal, lea detenidamente las presentes instrucciones de uso antes de utilizar el producto.

[Uso de notación]

Anotación	Explicación
 PRECAUCIÓN	Indica un peligro con un nivel de riesgo bajo que, si no se evita, podría generar una lesión menor o moderada.



PRECAUCIÓN

- **Use el producto únicamente en zonas bien ventiladas**
Si la ventilación es insuficiente, los disolventes derramados pueden producir daños.
- **Primeros auxilios**
Exposición de la piel:
Lave la zona expuesta con abundante agua y jabón.
Exposición de los ojos:
Abra los ojos lo máximo posible y lávelos con agua limpia durante al menos 15 minutos.
Solicite atención médica inmediatamente.
Ingestión:
Lávese bien la boca con agua abundante y solicite atención médica inmediatamente.
- **No derrame los disolventes**
El derrame y las fugas pueden provocar incendios, descargas eléctricas, intoxicación, lesiones y corrosión.
Al limpiar un disolvente derramado, utilice el equipo protector apropiado.
- **Lleve protección ocular y guantes protectores**
Los ácidos orgánicos son nocivos para la salud y no deben entrar en contacto directo con la piel.
- **Manipule el envase con cuidado**
La manipulación incorrecta puede provocar roturas o salpicaduras del producto.
- **Use este producto únicamente para el fin indicado**
Este producto está pensado para el DIAGNÓSTICO *IN VITRO* EXCLUSIVAMENTE para las mediciones de hemoglobina F y A₂ en muestras de sangre realizadas por profesionales sanitarios.
- **Deseche el producto correctamente**
Deseche el producto de acuerdo con las leyes y normativas locales, estatales y federales.

NOTA

Guarde las presentes instrucciones de uso con el producto para consultarlas en el futuro.

CONTENIDO

1.	Uso previsto.....	4
2.	Resumen y explicación de la prueba	4
3.	Principio del procedimiento.....	4
4.	Procedimiento previo al uso.....	4
5.	Material suministrado.....	5
6.	Materiales requeridos, pero no suministrados.....	5
7.	Avisos y precauciones	5
8.	Almacenamiento y estabilidad	6
9.	Recolección y manipulación de muestras	6
10.	Procedimiento.....	6
11.	Resultados.....	8
12.	Limitaciones del procedimiento.....	8
13.	Valores esperados.....	8
14.	Características del rendimiento.....	9
15.	Bibliografía.....	11

1. Uso previsto

Los tampones de elución G11 β -Thalassemia Elution Buffers se han diseñado para el DIAGNÓSTICO *IN VITRO* para la determinación porcentual cuantitativa de la hemoglobina F y A₂ y para la detección de las variantes principales de la hemoglobina, especialmente HbE, HbD, HbS y HbC, en muestras de sangre completa tomadas mediante el modo de análisis de β -talasemia del analizador de glucohemoglobina automatizado Tosoh Automated Glycohemoglobin Analyzer HLC-723G11 β -Thalassemia Analysis Mode (denominado HLC-723G11 en las presentes instrucciones de uso), que se basa en el principio del análisis de cromatografía líquida de alta eficacia, a fin de facilitar el diagnóstico de β -talasemia. No se ha diseñado y nunca se debe usar para ningún otro tipo de sistema. Los tampones de elución G11 β -Thalassemia Elution Buffers están indicados únicamente para el uso por parte de profesionales sanitarios.

2. Resumen y explicación de la prueba

La hemoglobina (Hb) es un tetrámero que consta de 2 cadenas α y 2 cadenas no α . En la síntesis normal, las cadenas α y las cadenas no α (cadena β , cadena γ y cadena δ) se sintetizan sin sobreproducción ni producción insuficiente.

Las talasemias son trastornos hereditarios provocados por la síntesis anormal de las cadenas de globina.

Dado que los portadores de talasemia generalmente se encuentran en un amplio cinturón alrededor del Mediterráneo, con frecuencia se la denomina “anemia del Mediterráneo”.

En los trastornos talasémicos, a causa de un defecto cuantitativo en la síntesis de una cadena específica, podrían sintetizarse las cadenas α libres o las cadenas de globina simple, como HbH (β_4) y Hb de Bart (γ_4) de la hemoglobina.

De manera similar, la β -talasemia implica una reducción o falta de producción de cadenas β de hemoglobina, que se compensa con la sobreproducción de cadenas γ y cadenas δ . En consecuencia, la HbA₂ ($\alpha_2\delta_2$) y la HbF ($\alpha_2\gamma_2$) generalmente presentan niveles elevados de β -talasemia.

3. Principio del procedimiento

El HLC-723G11 se basa en el principio de la cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC). La separación se obtiene mediante una columna de intercambio de cationes en base a las diferencias en las interacciones iónicas entre los componentes de la hemoglobina en un periodo de 5 min.

Para separar y analizar la HbF y la HbA₂ se utiliza una elución de gradiente escalonado. Los tres tipos de tampones de elución G11 β -Thalassemia Elution Buffers (G11 β -Thalassemia Elution Buffers No. 1, 2 y 3 (S)) contienen concentraciones de sal y pH diferentes. La HbF (%) y la HbA₂ (%) se determinan como un porcentaje relativo del área integrada de cada fracción de Hb frente a la suma de dichas fracciones de hemoglobina, tras la calibración realizada mediante la curva de calibración establecida con el kit del calibrador G11 F&A2 Calibrator Set.

4. Procedimiento previo al uso

Inspeccione el embalaje y la parte exterior del envase de aluminio para detectar signos de deterioro antes del uso. Si se observan daños visibles, póngase en contacto con el representante local de ventas de Tosoh.

Verifique que el siguiente documento se encuentra incluido en el envase.

- Instrucciones de uso 1 copia (en cada caja)

5. Material suministrado

N.º de catálogo	Descripción	Contenido (por envase)
0023505	G11 β -Thalassemia Elution Buffer No. 1 (S)	800 ml
0023506	G11 β -Thalassemia Elution Buffer No. 2 (S)	800 ml
0023507	G11 β -Thalassemia Elution Buffer No. 3 (S)	800 ml

Los tampones de elución G11 β -Thalassemia Elution Buffers son tampones de ácido orgánico. Cada uno contiene menos de un 0,05 % de azida de sodio como conservante.

6. Materiales requeridos, pero no suministrados

Se necesitan los siguientes materiales para efectuar el análisis de la HbF y la HbA₂ con el analizador con modo de análisis de β -talasemia HLC-723G11 β -Thalassemia Analysis Mode. Pueden obtenerse por separado en Tosoh Corporation.

	N.º de catálogo
G11 F&A2 Calibrator Set	0023508
G11 F&A2 Control Set	0023509
TSKgel G11® β -Thal.	0023504
HSi Hemolysis & Wash Solution (L)	018431L
HSi Hemolysis & Wash Solution (LL)	0019550

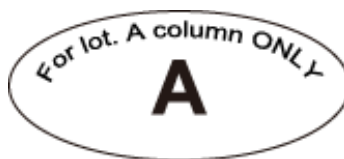
Sólo pueden utilizarse materiales proporcionados por Tosoh Corporation. Los materiales de procedencia diferente no pueden utilizarse como sustitutos, puesto que el rendimiento de la prueba se calcula estrictamente en base a los materiales de Tosoh Corporation.

Si desea obtener más información sobre estos materiales, póngase en contacto con el representante local de ventas de Tosoh.

7. Avisos y precauciones

- 1) Los tampones de elución G11 β -Thalassemia Elution Buffers No.1, No.2 y No.3 (S) se han diseñado PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO EXCLUSIVAMENTE.
- 2) El tampón de elución G11 β -Thalassemia Elution Buffers se ha diseñado exclusivamente para ser utilizado junto con el sistema analizador HLC-723G11, la columna TSKgel G11 β -Thal. y la solución de hemólisis y lavado HSi Hemolysis & Wash Solution que se enumeran a continuación, y nunca con otras combinaciones.
 - Tosoh Automated Glycohemoglobin Analyzer HLC-723G11
 - Columna TSKgel G11 β -Thal.
 - Solución de hemólisis y lavado HSi Hemolysis & Wash Solution (L), (LL)
- 3) Este producto no debe utilizarse una vez transcurrida la fecha de caducidad.
- 4) Cabe destacar que los tampones de elución G11 β -Thalassemia Elution Buffers deben utilizarse en un plazo de 90 días desde su apertura (siempre y cuando el envase pueda presionarse y cerrarse de forma que no entre aire).
- 5) Es necesario leer las presentes instrucciones de uso y el manual de instrucciones del analizador con modo de análisis de β -talasemia HLC-723G11 β -Thalassemia Analysis Mode.
- 6) Lea atentamente las indicaciones que se incluyen en las presentes instrucciones de uso y las correspondientes a la columna TSKgel G11 β -Thal.
- 7) Use siempre los tampones de elución G11 β -Thalassemia Elution Buffers en combinación con la columna TSKgel G11 β -Thal. del mismo número de lote. El número de lote de la columna se indica mediante un único carácter alfabético en mayúscula (A, B, etc.) en la etiqueta de la caja

de la columna. En la etiqueta del tampón de elución aparece un carácter alfabético correspondiente al número de lote de la columna, como se muestra a continuación.



- 8) Si el envase de aluminio contiene tampón de elución restante que se desea volver a utilizar, pero se ha extraído del analizador y almacenado, presiónelo manualmente y con cuidado para retirar el aire sobrante, y almacénelo a una temperatura entre 4 y 30 °C, apretando con firmeza la tapa para que no entre aire.
- 9) No rellene ningún envase de aluminio con el tampón de elución sobrante.
- 10) Si utiliza la función de gestión de lotes del analizador HLC-723G11, introduzca la información del código de barras impreso en las etiquetas de la caja o el envase de los tampones de elución. Consulte el manual de instrucciones del analizador con modo de análisis de β -talasemia HLC-723G11 β -Thalassemia Analysis Mode para obtener información detallada sobre el procedimiento.
- 11) Para una eliminación segura de los desechos, es recomendable que cada laboratorio cumpla con los procedimientos de laboratorio establecidos y las normativas locales, estatales y federales.
- 12) Las muestras de pacientes (muestras clínicas) deben considerarse potencialmente infecciosas en todo momento, por lo que deben manipularse con los procedimientos de laboratorio y las directrices institucionales establecidas.
- 13) Los incidentes de carácter grave que se produzcan en relación con el dispositivo deben comunicarse al fabricante y a las autoridades reguladoras del país en el que se utilice el analizador HLC-723G11.

8. Almacenamiento y estabilidad

Todos los materiales cerrados permanecerán estables hasta la fecha de caducidad que figura en la etiqueta siempre que se conserven a temperaturas comprendidas entre los 4 y 30 °C. La fecha de caducidad se indica en las etiquetas de la caja del envase y del envase de aluminio.

Los tampones de elución G11 β -Thalassemia Elution Buffer No. 1, No. 2 y No. 3 (S) permanecerán estables durante 90 días tras la fecha de apertura siempre que se conserven a temperaturas comprendidas entre los 4 y 30 °C.

9. Recolección y manipulación de muestras

Para el análisis, es necesario tomar una muestra de sangre venosa completa en un tubo primario que contenga EDTA.

La muestra de sangre venosa se debe obtener asépticamente. No se necesita una preparación especial. Las muestras de sangre tomadas en tubos primarios que contengan EDTA podrán almacenarse a 25 °C durante 24 horas o a 2-8 °C durante 14 días antes de realizar el análisis.

10. Procedimiento

Asegúrese de leer las instrucciones de uso de la columna TSKgel G11 β -Thal., del kit del calibrador G11 F&A2 Calibrator Set, del kit de control G11 F&A2 Control Set y de la solución de hemólisis y lavado HSi Hemolysis & Wash Solution, así como el manual de instrucciones del analizador con modo de análisis de β -talasemia HLC-723G11 β -Thalassemia Analysis Mode, para obtener instrucciones detalladas sobre su preparación.

- 1) Instalación de la columna y el reactivo:
Coloque en el analizador la columna y el reactivo indicados a continuación de manera adecuada. La columna y el reactivo se suministran listos para usar.

- Columna TSKgel G11 β -Thal.
- Solución de hemólisis y lavado HSi Hemolysis & Wash Solution (L) o (LL)

2) Instalación de tampones:

- 1) Permita que el tampón de elución regrese a temperatura ambiente antes de utilizarlo.
- 2) Pulse la tecla STOP en el panel de operaciones del sistema HLC-723G11 para regresar al estado STAND-BY.
- 3) Destape los envases de los tampones de elución. Conserve las tapas por si fuese necesario almacenar los tampones de elución por separado tras retirarlos del analizador.
- 4) Asegúrese de insertar el tubo que coincida con el color del envase del tampón de elución que esté instalando.
- 5) Presione el envase del tampón de elución manualmente y con cuidado para eliminar todo el aire sobrante, y ajuste correctamente la tapa para que no entre aire durante el funcionamiento.

3) Calibración:

La frecuencia de la calibración debería decidirse en función de los resultados del control de calidad y de la calidad del cromatograma en cada laboratorio. Para obtener todos los detalles sobre la recalibración, consulte el manual de instrucciones del analizador HLC-723G11 y las instrucciones de uso del kit del calibrador G11 F&A2 Calibrator Set.

El kit del calibrador G11 F&A2 Calibrator Set está preparado para que su valor se ajuste a los valores del reactivo de referencia de la OMS, código NIBSC: 89/666 para la HbA₂ y 85/616 para la HbF.

4) Procedimiento de control de calidad:

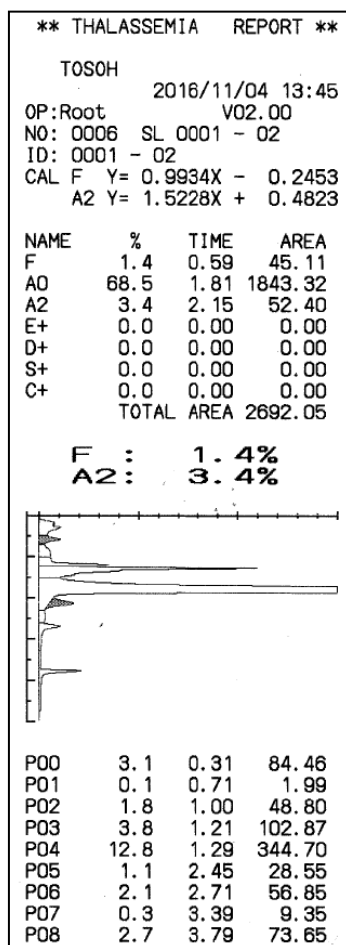
Para supervisar y evaluar la precisión y el funcionamiento analítico, se recomienda procesar, como mínimo, dos niveles de control al menos una vez al día.

El kit de control G11 F&A2 Control Set se suministra liofilizado. Consulte las instrucciones de uso del kit de control G11 F&A2 Control Set para obtener más información.

Analice los materiales de control de calidad según las indicaciones del manual de instrucciones del analizador con modo de análisis de β -talasemia HLC-723G11 β -Thalassemia Analysis Mode.

Si una o varias muestras de control quedan fuera de los intervalos establecidos, es necesario investigar la validez de la curva de calibración antes de notificar los resultados del paciente. Siga las recomendaciones de las agencias reguladoras locales, estatales y federales, así como las políticas del laboratorio.

Ejemplo de cromatograma del kit de control de nivel 1 G11 F&A2 Control Set, Level (1):



11. Resultados

Los valores de medición (%) indican el porcentaje de cada pico en relación con el área total. Tenga en cuenta que la unidad mínima de medición mostrada es 0,1 %.

12. Limitaciones del procedimiento

1) Dilución de la muestra:

Las concentraciones bajas de hemoglobina podrían hacer que el área total del cromatograma fuera de < 900, por lo que los valores de HbF y HbA₂ no deberían indicarse.

Las concentraciones altas de hemoglobina podrían hacer que el área total del cromatograma fuera de > 5.000, por lo que los valores de HbF y HbA₂ no deberían indicarse.

2) Intervalo de medición:

El intervalo de medición de la HbF va de 0,3 % a 50,0 % y el de la HbA₂, de 1,8 % a 9,9 %.

13. Valores esperados

Intervalo de referencia (rasgo β -talasemia):

HbA₂ $\geq$ 3,5 %

Referencia: Servicio Nacional de Salud (Reino Unido). Programa de diagnóstico de talasemia y células falciformes del Servicio Nacional de Salud (NHS, por sus siglas en inglés). Noviembre de 2006.

14. Características del rendimiento

1) Linealidad de la dilución:

Se realizó un estudio con el calibrador de nivel 2 G11 F&A2 Calibrator Level 2 diluido con varias tasas de la solución de hemólisis y lavado HSi Hemolysis & Wash Solution para determinar la linealidad de los valores de HbF (%) y HbA₂ (%) con respecto al área total. Los resultados demuestran que es lineal en muestras con un área total de 900 a 5.000. Se recomienda realizar mediciones con un área total de 1.000 a 4.500 para que los resultados sean más fiables.

Área total	% de HbF	% de HbA ₂
853	4,5	6,3
1.720	4,6	6,4
2.238	4,7	6,3
2.789	4,7	6,4
3.465	4,7	6,4
3.977	4,8	6,5
4.483	4,8	6,5
5.318	4,8	6,5

2) Linealidad:

La siguiente tabla muestra la recuperación de las muestras preparadas al mezclar dos tipos de muestras con tasas diferentes.

Muestra de HbF alta (tasa)	Muestra de HbF baja (tasa)	Valor de HbF medido (%)	Valor de HbF teórico (%)	Recuperación (%)
0	10	0,33	—	—
2	8	10,08	10,26	98
4	6	20,87	20,19	103
6	4	30,33	30,12	101
8	2	41,04	40,05	102
10	0	49,98	—	—

Muestra de HbA ₂ alta (tasa)	Muestra de HbA ₂ baja (tasa)	Valor de HbA ₂ medido (%)	Valor de HbA ₂ teórico (%)	Recuperación (%)
0	10	1,76	-	-
2	8	3,22	3,38	95
4	6	4,96	5,00	99
6	4	6,54	6,62	99
8	2	8,44	8,24	102
10	0	9,86	-	-

3) Arrastre:

El arrastre de muestras se comprobó al medir dos muestras en blanco sucesivas producidas justo después de una muestra con un área total elevada. El arrastre (%) se calcula así:

$$\text{Arrastre (\%)} = (\text{Área total de la muestra en blanco}) / (\text{Área total de la muestra}) \times 100$$

Área total			Arrastre (%)	
Muestra	En blanco 1	En blanco 2	En blanco 1	En blanco 2
7.608,74	31,51	34,15	0,4	0,4

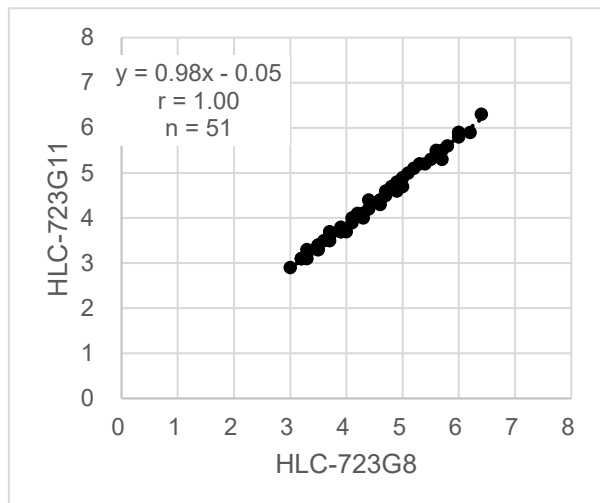
Según estos resultados, el arrastre no es clínicamente significativo.

4) Comparación de métodos:

Se realizó un estudio de comparación de métodos en 51 muestras de pacientes, con valores de HbA₂ (%) comprendidos entre el 2,9 % y el 6,3 %, empleando los analizadores HLC-723G11 y HLC-723G8 en el modo de análisis de β-talasemia β-Thalassemia Analysis Mode.

El siguiente gráfico ilustra los resultados.

Estudio de comparación de métodos entre los analizadores HLC-723G11 y HLC-723G8:



5) Precisión:

1) Precisión intraensayo (o dentro de la prueba, n = 20)

Se realizó un estudio de precisión intraensayo (n = 20) en dos niveles del kit de control G11 F&A2 Control Set.

HbF

Muestra	Media (%)	Desviación estándar (%)	Coefficiente de variación (%)
Nivel de material de control 1	1,50	0,00	0,00
Nivel de material de control 2	5,12	0,04	0,78

HbA₂

Muestra	Media (%)	Desviación estándar (%)	Coefficiente de variación (%)
Nivel de material de control 1	3,19	0,03	0,94
Nivel de material de control 2	6,48	0,04	0,62

2) Precisión entre ensayos (o entre días; n = 20):

Se realizó un estudio de precisión entre ensayos (n = 20) en el que se midieron dos niveles del kit de control G11 F&A2 Control Set una vez al día durante 20 días. Se obtuvieron los siguientes resultados.

HbF

Muestra	Media (%)	Desviación estándar (%)	Coefficiente de variación (%)
Nivel de material de control 1	1,51	0,02	1,32
Nivel de material de control 2	4,69	0,03	0,64

HbA₂

Muestra	Media (%)	Desviación estándar (%)	Coefficiente de variación (%)
Nivel de material de control 1	3,17	0,06	1,89
Nivel de material de control 2	5,78	0,11	1,90

6) Interferencias:

Glucosa/triglicéridos:

No se observaron efectos por debajo de 10 g/l con glucosa ni 5 g/l con triglicéridos.

Cianato de sodio/acetaldehído:

La presencia de estas sustancias puede reducir el valor de HbA₂. Se debe tener cuidado al interpretar muestras de pacientes alcohólicos o nefríticos.

Hemoglobina variante:

Las variantes de la hemoglobina HbE, HbD, HbS y HbC se separan de la HbF y la HbA₂, y se calculan los valores de la HbF y la HbA₂. Dado que se observa una gran cantidad de variantes de Hb en todo el mundo, los resultados deben interpretarse con mucho cuidado.

La asignación de un nombre específico no puede excluir la presencia de otras variantes.

15. Bibliografía

- 1) Bunn HF, Forget BG. Hemoglobin: Molecular, Genetic and Clinical Aspects. WB Saunders, Philadelphia 1986.
- 2) Huisman THJ, Carver MFH, Efremov GD. A Syllabus of Human Hemoglobin Variants. Sickle Cell Anemia Foundation, Augusta, Georgia, 1996.
- 3) Lehmann H, Huntsman RG. Man's Haemoglobins Including the Haemoglobinopathies and Their Investigation. North Holland Publishing Company, Amsterdam, 1974.
- 4) Nienhuis AW, Benz EJ. Regulation of Haemoglobin Synthesis during the Development of the Red Cell. N Engl J Med 1997; 297:1318°-28, 1371-81, 1430-36.
- 5) Stamatoyannopoulos G, Nienhuis AW. Haemoglobin switching. In: Stamatoyannopoulos G, Nienhuis AW, Majerus PW, Varmus H, eds. The Molecular Basis of Blood Diseases, pp. 107-56, 2ª ed. WB Saunders, Philadelphia, 1994.
- 6) Weatherall D, Clegg JB. The Thalassemia Syndromes, 3ª ed. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1981.

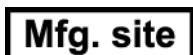
Símbolos utilizados en las etiquetas del producto



Volumen neto
(después de la
reconstitución del material
liofilizado)



Únicamente para el lote de
la columna especificada.



Lugar de fabricación actual



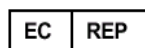
TOSOH



TOSOH CORPORATION

BIOSCIENCE DIVISION

Shiba-Koen First Bldg.
3-8-2, Shiba, Minato-ku, Tokyo 105-8623, Japón
Teléfono: +81 3 5427 5181 Fax: +81 3 5427 5220



TOSOH EUROPE N.V.

Transportstraat 4
B-3980 Tessenderlo, Bélgica
Teléfono: +32 13 66 88 30 Fax: +32 13 66 47 49

Se prohíbe reimprimir o copiar cualquier parte o la totalidad de este manual sin el consentimiento escrito de Tosoh Corporation.

El contenido de este manual está sujeto a cambios sin previo aviso.

"HLC", "HLC-723" y "TSKgel" son marcas comerciales registradas de Tosoh Corporation.

"G11" es una marca comercial registrada de Tosoh Corporation.